

KARAKTERISASI DAN AKTIVITAS FOTOPROTEKTOR PIGMEN KAPANG ENDOFIT ASAL TUMBUHAN PESISIR SARANG SEMUT (*Hydnophytum formicarum*)

*Characterization and Photoprotector Activity of Endophytic Fungal Pigments from Coastal Plant Sarang Semut (*Hydnophytum formicarum*)*

Mada Triandala Sibero^{1*}, Kustiariyah Tarman^{1,3}, Novriyandi Hanif²

¹Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan.

Jl. Agatis, Gedung FPIK, Kampus IPB Dramaga Bogor 16680

²Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Gedung Kimia Wing 1 Lantai 3, Jl. Tanjung, Kampus IPB Dramaga Bogor, 16680

³Divisi Bioteknologi Kelautan, Pusat Kajian Sumberdaya Pesisir dan Lautan, Institut Pertanian Bogor, Jl.

Raya Pajajaran 1, Kampus IPB Baranangsiang Bogor 16144

*Korespondensi: madatriandala@hotmail.com

Diterima: 15 Februari 2016/ Review: 20 Februari 2016/ Disetujui: 1 April 2016

Cara sitasi: Sibero MT, Tarman K, Hanif N. 2016. Karakterisasi dan aktivitas fotoprotektor pigmen kapang endofit asal tumbuhan pesisir sarang semut (*Hydnophytum formicarum*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 19(1):1-8.

Abstrak

Isolat kapang endofit RS3 asal tumbuhan pesisir sarang semut (*Hydnophytum formicarum*) menghasilkan metabolit berupa pigmen hitam. Penelitian ini bertujuan mendapatkan pigmen, menentukan karakteristik dan aktivitas fotoprotektor yang dimiliki pigmen ekstraseluler kapang RS3. Penelitian ini terdiri atas beberapa tahap, yaitu penentuan larutan pengendap yang tepat untuk mendapatkan pigmen, karakterisasi pigmen menggunakan instrumen dan berdasarkan kelarutan serta analisis nilai *Sun Protection Factor* (SPF). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pigmen dapat diendapkan menggunakan pelarut asam pada pH $\leq 2,5$. Gugus fungsional yang diperlihatkan pada spektrum IR adalah hidroksi, cincin aromatik, gugus fenol, dan amina. Berdasarkan analisis FTIR dan kelarutan, jenis pigmen yang dihasilkan oleh kapang RS3 diduga kuat sebagai melanin. Hasil analisis fotoprotektor menunjukkan nilai SPF sebesar 11,33.

Kata kunci: endofit, fotoprotektor, melanin, pigmen, SPF

Abstract

Endophytic fungus RS3 isolated from coastal plant sarang semut (*Hydnophytum formicarum*) produced extracellular black pigment. The aims of this research were to obtain the pigment, to characterize and to determine the photoprotector activity. This research was conducted into several steps, that were determination of the best precipitating agent, characterization using instrument and solubility analysis, and analysis of *Sun Protection Factor* (SPF). Results showed the pigment was precipitated using acid solvent with pH ≤ 2.5 . Functional groups of pigment were hydroxyl, aromatic ring, phenol and amine. According to its characteristics, black pigment produced by RS3 isolate was proposed as melanin. The photoprotector analysis showed the SPF value was 11.33.

Keywords: endophyte, melanin, pigment, photoprotector, SPF

PENDAHULUAN

Kapang endofit adalah fungi mikroskopis yang hidup di jaringan makhluk hidup tanpa menyebabkan penyakit pada tumbuhan inangnya (Jones *et al.* 2008; Kjer *et al.* 2010).

Biodiversitas kapang endofit sangat tinggi dan dapat diisolasi dari berbagai tumbuhan (Ferreira *et al.* 2015). Kapang endofit yang sudah berhasil diisolasi dari tumbuhan pesisir serta laut asal Indonesia antara lain yang diisolasi dari lamun,

mangrove dan rumput laut (Tarman *et al.* 2011; Tarman *et al.* 2013; Oktavia *et al.* 2014). Hutan mangrove merupakan salah satu ekosistem pesisir yang menyimpan biodiversitas kapang endofit yang sangat tinggi (Karuna *et al.* 2009). Pigmen merupakan salah satu metabolit sekunder yang dihasilkan oleh kapang endofit dengan warna yang sangat beragam. Warna yang dihasilkan oleh kapang berupa pigmen intraseluler yang terdapat di dalam miselia serta pigmen ekstraseluler yang dilepaskan ke lingkungan tumbuhnya (Velmurugan *et al.* 2010). Penelitian Muges *et al.* (2014) menunjukkan beberapa kapang endofit yang diisolasi dari tumbuhan *Clerodendrum viscosum* L. menghasilkan zat warna kuning kemerahan dan merah gelap. Penelitian lain menunjukkan bahwa kapang *Penicillium aculeatum* ATCC 10409 mampu menghasilkan pigmen kuning (Afshari *et al.* 2015) sedangkan Gonçalves *et al.* (2012) berhasil memisahkan dan mengkarakterisasi pigmen hitam yang dihasilkan kapang *Aspergillus nidulans* dan teridentifikasi sebagai melanin.

Kapang RS3 diisolasi dari tanaman epifit pesisir sarang semut (*Hydnophytum formicarum*). Kapang ini menghasilkan pigmen ekstraseluler berwarna hitam yang diduga sebagai melanin sehingga digunakan dalam penelitian ini. Melanin adalah pigmen yang bersifat hidrofobik, berwarna hitam dengan berat molekul yang tinggi, disusun oleh polimerisasi komponen fenolik dan atau indolik yang dihasilkan oleh makroorganisme dan mikroorganisme (Gonçalves *et al.* 2012; Madhusudhan *et al.* 2014; Sansinenea dan Aurelio 2014). Penelitian membuktikan bahwa melanin memiliki aktivitas biologis sebagai antioksidan (Tu *et al.* 2009; Huang *et al.* 2011). Makhluk hidup menghasilkan melanin untuk melindungi diri dari paparan sinar matahari karena melanin memiliki kemampuan fotoprotektor yang mampu menyerap spektrum dan mencegah kerusakan akibat paparan sinar UV (Nosanchuk dan Casadevall 2003; Huang *et al.* 2011). Kemampuan fotoprotektor pigmen yang dihasilkan kapang RS3 perlu dikaji untuk

melihat potensinya sebagai bahan baku yang dapat diaplikasikan dalam industri tabir surya. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan rendemen pigmen, mengkarakterisasi dan mengetahui aktivitas fotoprotektor pigmen dari kapang RS3.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah kapang RS3 koleksi Laboratorium Mikrobiologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Media kultur kapang terdiri atas media padat Difco™ *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan media cair Difco™ *Potato Dextrose Broth* (PDB). Pemisahan pigmen dari media tumbuh menggunakan HCl 0,1 N sedangkan untuk karakterisasi dan uji fotoprotektor menggunakan akuades, etanol (Merck), metanol (Merck), n-heksana (Merck), kloroform (Merck), etil asetat (Merck), NaOH 0,1 N dan HCl 0,1 N. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf (*Yamato SM 52 Autoclave*), cawan petri (*Pyrex*), erlenmeyer (*Pyrex*), pH meter, sentrifugasi *Himac CR21G, vortex, Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) Bruker Tensor 37, *laminar air flow* (*Thermo Scientific 1300 Series A2*), *Shimadzu UV-1700 PharmaSpec spektrofotometer* UV-Vis, pipet mikro Eppendorf dan mikro tube.

Metode Penelitian

Penentuan Larutan Pengendap Pigmen

Kapang RS3 menghasilkan pigmen ekstraseluler yang dikeluarkan ke media tumbuh sehingga harus dipisahkan antara pigmen dengan media menggunakan metode pengendapan. Penelitian pendahuluan berupa penentuan jenis pengendap serta pH yang digunakan untuk memisahkan pigmen dari media tumbuhnya. Sebanyak 1 mL media kultur PDB ditambahkan ke dalam 9 mL larutan yang terdiri atas akuades, metanol, etil asetat, n-heksana, kloroform dan HCl 0,1 N selanjutnya dihomogenkan menggunakan vorteks dan

disimpan di dalam lemari pendingin selama 15 menit. Endapan yang terbentuk menandakan bahwa pigmen dapat dipisahkan dari media kultur. Larutan yang mampu mengendapkan pigmen digunakan untuk tahap selanjutnya.

Pengendapan Pigmen

Pengendapan pigmen mengacu pada Dong dan Yao (2012) dengan beberapa modifikasi. Sebanyak 100 mL pengendap ditambahkan ke dalam 100 mL media kultur pada pH yang sudah ditentukan lalu dibiarkan di dalam lemari pendingin selama 24 jam. Selanjutnya media kultur yang sudah bercampur dengan larutan pengendap disentrifugasi dengan suhu dingin selama 30 menit dengan kecepatan 5000 g. Pigmen ekstraseluler akan terpisah sebagai pelet dan digunakan untuk tahap berikutnya.

Karakterisasi Pigmen

Karakteristik pigmen dianalisis menggunakan uji kelarutan serta instrumen FTIR. Uji kelarutan dilakukan mengacu pada Tu *et al.* (2009) dengan beberapa modifikasi. Sebanyak 1 mL pigmen kasar ditambahkan ke dalam 9 mL pelarut akuades, HCl 0,1 N, pelarut organik (etanol, heksana, kloroform, etil asetat) dan NaOH 0,1 M selanjutnya dihomogenkan menggunakan vortex selama 10 detik lalu didiamkan di dalam lemari pendingin dan diamati kelarutannya.

Karakterisasi menggunakan FTIR dimulai dengan meringkan *pellet* menggunakan pengering beku (*freeze dryer*) selanjutnya dibentuk menjadi disk dengan suasana vakum

lalu dianalisis pada bilangan gelombang 500 hingga 4000/cm.

Analisis Komponen Aktif

Analisis komponen aktif pigmen menggunakan metode uji fitokimia yang terdiri atas uji alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin (Harborne 1987). Komponen fenol dideteksi menggunakan instrumen FTIR.

Aktivitas Fotoprotektor

Uji fotoprotektor dilakukan secara *in vitro* menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis. Kemampuan fotoprotektor dinyatakan dalam nilai SPF. Uji SPF dilakukan untuk melihat aktivitasnya sebagai fotoprotektor UV-B. Spektrofotometer dikalibrasi menggunakan 5 mL KOH 0,1. Selanjutnya larutan pigmen diencerkan menjadi 1% dengan cara sebanyak 100 μ L *pellet* dilarutkan dalam 10 mL KOH 0,1 M selanjutnya dihomogenkan menggunakan vortex selama 10 detik dan dilakukan pemindaian pada panjang gelombang 290-400 nm. Pengukuran nilai SPF UV-B dilakukan berdasarkan persamaan Mansur *et al.* (1986) yaitu:

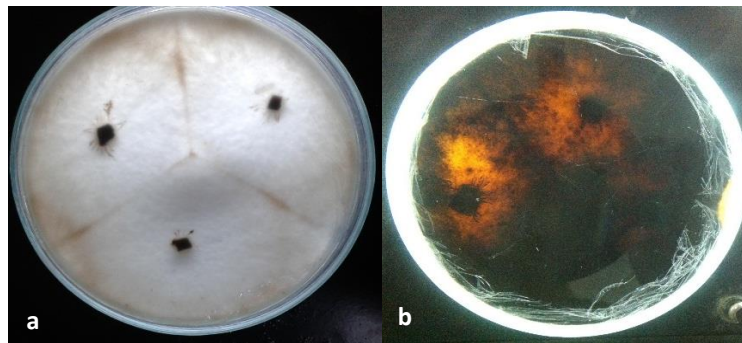
$$SPF = FK \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times abs(\lambda)$$

dimana FK adalah faktor koreksi, konstanta $EE(\lambda)$ merupakan spektrum efek eritema, $I(\lambda)$ merupakan spektrum cahaya UV dan $Abs(\lambda)$ merupakan absorbansi sampel. Faktor koreksi 10 berasal dari perhitungan yang berasal dari

Tabel 1 Konstanta $EE(\lambda) \times I(\lambda)$

Panjang gelombang (nm)	Spektrum efek eritema (EE) \times Spektrum cahaya UV (I)
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180
Total	1

Sumber: Sayre *et al.* (1979)



Gambar 1 Profil kapang RS3 pada media PDA hari ke-15
(a) tampak atas, (b) tampak bawah

ketetapan (Malsawmtluangi *et al.* 2013). Nilai $EE(\lambda) \times I(\lambda)$ adalah konstanta yang ditetapkan oleh Sayre *et al.* (1979) disajikan pada Tabel 1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengendapan dan Rendemen Pigmen

Kapang RS3 yang dikultivasi pada PDA mulai mengubah warna media menjadi cokelat pada hari ke-10 dan menjadi hitam gelap pada hari ke-15, sedangkan pada PDB mulai memproduksi pigmen pada hari ke-18 yang ditandai dengan perubahan warna media dari kuning transparan menjadi cokelat lalu akan menjadi warna hitam gelap setelah hari ke-21. Beberapa kapang memproduksi pigmen hitam dengan waktu yang lebih cepat. Kapang *Gliocephalotrichum simplex* memproduksi pigmen hitam yang telah dikonfirmasi sebagai melanin pada waktu hari ke-7 (Jalmi *et al.* 2012).

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa kultur statis yang miseliumnya menutupi permukaan akan lebih cepat memproduksi pigmen dibandingkan kultur yang miseliumnya tumbuh di dalam media. Hal tersebut diduga sebagai induksi pada kapang untuk

menghasilkan metabolit. Profil kapang RS3 pada media PDA dapat dilihat pada Gambar 1.

Pigmen yang larut di dalam media kultur harus dipisahkan dengan pengendapan. Hasil penentuan larutan pengendap pigmen dapat dilihat pada Tabel 2 yang menunjukkan bahwa hanya larutan asam klorida (HCl) yang mampu memisahkan pigmen ekstraseluler kapang RS3 yang terlarut di dalam media PDB.

Hasil penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa pigmen hitam yang dihasilkan oleh makhluk hidup umumnya adalah melanin yang dapat diendapkan menggunakan asam klorida (HCl) pada pH rendah (Tu *et al.* 2009; Rajagopal *et al.* 2011; Dong dan Yao, 2012). Hasil pengujian pH diketahui bahwa pigmen kapang RS3 dapat diendapkan pada $pH \leq 2,5$. Rendemen pigmen yang diperoleh sebesar 1,98% (v/v).

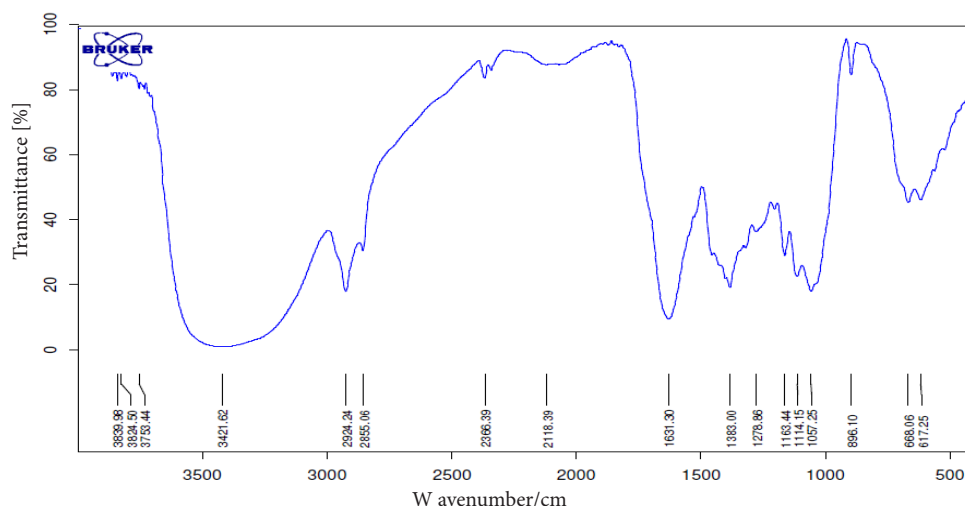
Karakteristik Pigmen

Gugus fungsional adalah grub atom yang memiliki karakteristik kimia tertentu pada suatu molekul yang memungkinkan pengelompokan struktur ke suatu grub tertentu (McMurry 2008). Gugus fungsional yang terdapat pada *pellet*

Tabel 2 Larutan pengendap pigmen

Jenis larutan	Pengendapan
Akuades	-
Etil asetat	-
n-heksana	-
Kloroform	-
Metanol	-
Asam klorida (HCl)	+

Keterangan: (+) mengendap, (-) tidak mengendap



Gambar 2 Spektrum IR pigmen kapang RS3

pigmen kapang RS3 yang ditunjukkan pada Gambar 2 adalah ulur hidroksi (OH) dan amina (NH) pada bilangan gelombang 3421,62/cm, cincin aromatik (C=C) pada bilangan gelombang 1631,30/cm. Bilangan gelombang 1290-1000/cm dapat digunakan untuk mengidentifikasi jenis alkohol (McMurry 2008).

Pellet pigmen memiliki gugus fungsional berjenis alkohol seperti fenil alkohol (fenol) yang terdeteksi pada bilangan gelombang 1278,86/cm. Gugus fungsional seperti hidroksi, amina, cincin aromatik dan fenol merupakan jenis gugus fungsional yang umumnya ditemukan pada melanin sehingga diduga bahwa pigmen yang dihasilkan oleh kapang RS3 adalah melanin (Gonçalves *et al.* 2012; Madhusudhan *et al.* 2014; Tarangini dan Mishra 2014). Melanin diketahui memiliki kelarutan yang khas dalam berbagai larutan. Hasil uji kelarutan *pellet* pigmen kapang RS3 dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil uji kelarutan menunjukkan bahwa pigmen tidak larut di dalam akuades, asam klorida (HCl), etanol, namun larut dalam natrium hidroksida (NaOH). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa melanin dari jamur dan ayam memiliki kelarutan yang sama dengan pigmen yang dihasilkan kapang RS3 (Tu *et al.* 2009; Dong dan Yao, 2012). Data spektrum IR dan kelarutan pigmen yang dihasilkan oleh kapang RS3 yang sesuai dengan ciri khas dari pigmen melanin sehingga diduga kuat bahwa pigmen hitam yang dihasilkan kapang ini adalah melanin.

Komponen Aktif Pigmen

Senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak pigmen dideteksi menggunakan analisis fitokimia dan instrument FTIR. Kemampuan fotoprotektif suatu ekstrak dipengaruhi oleh komponen aktif yang dimilikinya. Senyawa

Tabel 3 Kelarutan *pellet* pigmen kapang RS3

Pelarut	<i>Pellet</i> pigmen*	Melanin asal <i>G. gallus dosmesticus</i> **	Melanin asal <i>O. sinensis</i> ***
Akuades	tidak larut	tidak larut	tidak larut
HCl	tidak larut	tidak larut	tidak larut
Pelarut organik	tidak larut	tidak larut	tidak larut
NaOH	larut	larut	larut

Keterangan: * = hasil penelitian

** = Tu *et al.* (2009)

*** = Dong dan Yao (2012)

Tabel 3 Kelarutan *pellet* pigmen kapang RS3

Senyawa aktif	Hasil	Parameter
Alkaloid		
- Dragendorff	-	
- Meyer	-	Membentuk endapan
- Wagner	-	
Flavonoid	+	Lapisan berwarna jingga
Tanin	-	Hijau kehitaman
Saponin	-	Terbentuk busa
Fenol	+	FTIR (1278,86 cm ⁻¹)

Keterangan: (+) terdeteksi, (-) tidak terdeteksi

aktif yang dimiliki oleh *pellet* pigmen kapang RS3 dapat dilihat pada Tabel 4. Tabel tersebut menunjukkan bahwa pigmen kapang RS3 memiliki senyawa aktif berupa flavonoid dan fenol. Flavonoid diketahui mampu melindungi dari paparan UV melalui kemampuannya sebagai antioksidan (Dinkova-Kostova 2008). Senyawa fenol dari organisme laut diketahui memiliki aktivitas sebagai agen fotoprotektor yang dapat menghambat kerusakan kulit yang diakibatkan paparan sinar ultraviolet (Kim 2012). Senyawa fenol dan flavonoid diketahui sebagai antioksidan kuat (Nurjanah *et al.* 2012).

Kemampuan Fotoprotektor UV-B

Nilai SPF adalah indikator universal yang umum digunakan untuk menunjukkan keefektifan suatu bahan sebagai fotoprotektor. SPF didefinisikan sebagai jumlah energi UV yang dibutuhkan untuk menimbulkan MED (*Minimal Erythral Dose*) pada kulit yang terlindung produk dengan zat fotoprotektor

dibandingkan jumlah energi yang dibutuhkan untuk menimbulkan MED pada kulit tanpa perlindungan (Susanti *et al.* 2012). Hasil analisis SPF sebagai fotoprotektor UV-B dapat dilihat pada Tabel 5. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *pellet* pigmen ekstraseluler kapang RS3 sebanyak 1% memiliki nilai SPF UV-B sebesar 11,33. Nilai SPF dikategorikan ke dalam beberapa tipe proteksi yakni proteksi minimal (SPF 1-4), proteksi sedang (4-6), proteksi ekstra (6-8), proteksi maksimal (8-15) dan proteksi ultra (SPF>15) (Gonzales *et al.* 2008).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pigmen ekstraseluler kapang RS3 memiliki aktivitas SPF UV-B termasuk ke dalam kategori proteksi maksimal. Nilai SPF 11,33 berarti bahwa *pellet* pigmen ekstraseluler kapang RS3 yang diaplikasikan ke kulit mampu menghambat efek MED 11,33 kali lebih lama dibandingkan kulit tanpa dilindungi oleh pigmen. Kemampuan pigmen ekstraseluler kapang RS3 sebagai fotoprotektor sangat

Tabel 5 Nilai SPF UV-B *pellet* pigmen ekstraseluler kapang RS3

λ (nm)	(EE) x (I)	Absorbansi	SPF
290	0,0150	1,404	0,26
295	0,0817	1,316	1,07
300	0,2874	1,225	3,52
305	0,3278	1,109	3,63
310	0,1864	1,015	1,89
315	0,0839	0,946	0,79
320	0,0180	0,949	0,17
Total			11,33

dipengaruhi oleh karakteristik serta senyawa aktif yang dimilikinya. Kandungan fenol dan flavonoid yang terkandung dalam *pellet* sangat mempengaruhi kemampuan *pellet* pigmen ekstraseluler asal kapang RS3 sebagai fotoprotektor. Komponen fenol diketahui memiliki gugus aromatik yang dikonjugasikan dengan gugus karbonil sehingga mampu menyerap sinar UV dan melepaskannya dengan keluaran energi yang lebih rendah sehingga mencegah kerusakan kulit dari efek UV-A dan UV-B (Rai *et al.* 2012). Hasil penelitian Stevanato *et al.* (2014) menunjukkan berbagai jenis flavonoid memiliki SPF untuk UV-A dan UV-B.

KESIMPULAN

Pigmen dari kapang RS3 dapat dipisahkan dari media tumbuhnya menggunakan metode pengendapan. Penelitian membuktikan bahwa pigmen asal kapang RS3 dapat diendapkan menggunakan asam klorida (HCl) pada pH $\leq 2,5$ dengan rendemen sebesar 1,98% (v/v). Berdasarkan hasil karakteristik spektra IR dan kelarutannya pigmen yang dihasilkan oleh RS3 diduga kuat adalah melanin. Pigmen ini memiliki gugus fungsi seperti hidroksi, cincin aromatik, gugus fenol, dan amina. Hasil analisis fotoprotektor menggunakan metode SPF menunjukkan nilai 11,33. Kemampuan fotoprotektor pigmen asal kapang RS3 diduga kuat berasal dari senyawa aktif yang dimilikinya yakni fenol dan flavonoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Afshari M, Shahidi F, Mortazavi SA, Tabatabai F, Es'haghi Z. 2015. Investigating the influence of pH, temperature and agitation speed on yellow pigment production by *Penicillium aculeatum* ATCC 10409. *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters* 1-7.
- Dinkova-Kostova AT. 2008. Phytochemical as protectors against ultraviolet radiation: versatility of effects and mechanisms. *Planta Medica* 74: 1548-1559.
- Dong C, Yao J. 2012. Isolation, characterization of melanin derived from *Ophiocordyceps sinensis*, an entomogenous fungus endemic to the Tibetan Plateau. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 113(4): 474-479.
- Ferreira MCF, Vieira MLD, Zani CL, Alves TMA, Junior PAS, Murta SME, Romanha AJ, Gil LHV, Carvalho AGO, Zilli JE, Vital MJS, Rosa CA, Rosa LH. 2015. Molecular phylogeny, diversity, symbiosis and discovery of bioactive compounds of endophytic fungi associated with the medicinal Amazonian plant *Carapa guianensis* Aublet (Meliaceae). *Biochemical Systematic and Ecology* 59: 36-44.
- Gonçalves RCR, Lisboa HCF, Pombeiro-Sponchiado SR. 2012. Characterization of melanin pigment produced by *Aspergillus nidulans*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 28:1467-1474.
- Gonzales S, Manuel FL, Yolanda GC. 2008. The latest on skin photoprotection. *Clinic in Dermatology* 26: 614-626.
- Harborne. 1987. Metode Fitokimia, Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Padmawinata K, Sudiro I, penerjemah. Bandung: Penerbit ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Huang S, Pan Y, Gan D, Ouyang X, Tang S, Ekunwe SIN, Wang H. 2011. Antioxidant activities and UV-protective properties of melanin from the berry of *Cinnamomum burmannii* and *Osmanthus fragrans*. *Medical Chemistry Research* 20: 475-481.
- Jalmi P, Bodke P, Wahidullah S, Raghukumar S. 2012. The fungus *Gliocephalotrichum simplex* as source of abundant, extracellular melanin for biotechnology applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 28: 505-512.
- Jones GEB, Stanley SJ, Pinruan U. 2008. Marine endophyte source of new chemical natural products: a review. *Botanica Marina* 51: 163-170.
- Karuna C, Bapuji M, Rath CC, Murthy YLN. 2009. Isolation of mangrove fungi from Godavari and Krishna Deltas of Andhra Pradesh, India. *Journal Ecobiology* 24(1): 91-96.
- Kim SK. 2012. Marine cosmeceuticals: Trends and

- Prospect. New York: CRC Press.
- Kjer J, Debbab A, Aly AH, Proksch P. 2010. Method for isolation of marine-derived endophytic fungi and their bioactive secondary products. *Nature Protocols* 5(3): 479-490.
- Madhusudhan DN, Mazhari BBZ, Dastager SG, Agsar D. 2014. Production and cytotoxic of extracellular insoluble and droplets of soluble melanin by *Streptomyces lusitanus* DMZ-3. *BioMed Research International* 2014: 1-11.
- Malsawmtluangi C, Nath DK, Jamatia I, Lianhingthangi, Zanzoliana E, Pachuau L. 2013. Determination of Sun Protection Factor (SPF) number of some aqueous herbal extracts. *Journals of Applied Pharmaceutical Science* 3(09): 150-151.
- Mansur JS, Breder MVR, Mansur MCA, Azulay RD. 1986. Determinacao do fator de protecao solar por espectrofotometria. *An Bras Dermatology* 61:121-124.
- McMurry J. 2008. Organic Chemistry, 7th Edition. Belmont: Thomson Learning, Inc,
- Mugesh S, Thangavel A, Maruthamuthu M. 2014. Chemical stimulation of biopigment production in endophytic fungi isolated from *Clerodendrum viscosum* L. *Chemical Science Review and Letters* 3(10): 280-287.
- Nosanchuk JD, Casadevall A. 2003. The contribution of melanin to microbial pathogenesis. *Cellular Microbiology* 5: 203-223.
- Nurjanah, Azka A, Abdullah A. 2012. Aktivitas antioksidan dan komponen bioaktif semangai air (*Marsilea crenata*). *Jurnal Inovasi dan Kewirausahaan* 1(3): 152-158.
- Oktavia Y, Andhikawati A, Nurhayat T, Tarman. 2014. Characterization of crude cellulase of seagrass endophytic fungus. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis* 6(1): 209-218.
- Rai R, Shanmuga SC, Srinivas CR. 2012. Update on photoprotection. *Indian Journal Dermatology* 57: 335-342.
- Rajagopal K, Kathiravan G, Karthikeyan S. 2011. Extraction and characterization of melanin from *Phomopsis*: A phellogenic fungi isolated from *Azadirachta indica* A. Juss. *African Journal of Microbiology Research* 5(7):762-766.
- Sahara R. 2013. Kapang endofit dari tumbuhan pesisir sarang semut (*Hydnophytum formicarum*) dan potensinya sebagai anti hiperglikemik [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Sansinenea E, Aurelio O. 2014. Melanin: A solution for photoprotection of *Bacillus thuringiensis* based biopesticides. *Biochemistry and Pharmacology: Open Access* 3:3.
- Sayre MR, Agin PP, LeVee GJ, Marlowe E. 1979. A comparison of in vivo and in vitro testing of sunscreen formulas. *Photochemistry and Photobiology* 29: 559-566.
- Stevanato R, Bertelle M, Fibris S. 2014. Photoprotective characteristic of natural antioxidant polyphenols. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 69: 71-77.
- Susanti M, Dachriyanus, Putra DP. 2012. Aktivitas perlindungan sinar UV kulit buah *Gracinia mangostana* Linn. secara in vitro. *Jurnal Farmasi Indonesia Pharmacon* 13(2): 61-64.
- Tarangini K, Mishra S. 2014. Production of melanin by soil microbial isolate on fruit waste extract: two step optimization of key parameters. *Biotechnology Reports* 4: 139-146.
- Tarman K, Lindequist U, Wende K, Porzel A, Arnold N, Wessjohann LA. 2011. Isolation of a new natural product and cytotoxic and antimicrobial activities of extracts from fungi in Indonesia marine habitats. *Marine Drugs* 9: 294-306.
- Tarman K, Safitri D, Setyaningsih I. 2013. Endophytic fungi isolated from *Rhizophora mucronata* and their antibacterial activity. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology* 8(2): 69-76.
- Tu Y, Sun Y, Tian Y, Xie M, Chen J. 2009. Physicochemical characterisation and antioxidant activity of melanin from the muscles of Thai Black-bone silk fowl (*Gallus gallus domesticus* Brisson). *Food Chemistry* 114: 1345-1350.
- Velmurugan P, Yong HL, Chidambaram KV, Perumalsamy L, Jong CC, Byung TO. 2010. Effect of light on growth, intracellular and extracellular pigment production by five pigment-producing filamentous fungi in synthetic medium. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 109(4): 346-350.